Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Kiel
(Direktor: Prof. Dr. R. Schröder)

Weitere Untersuchungen über die Permeabilität des Amnions

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Christian-Albrecht-Universität zu Kiel

Vorgelegt von
Hagen Schmidt
aus Geestrup,
Kreis Hadersleben

Kiel 1927

Druck von Meinders & Elstermann, Osnabrück

Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Kiel
(Direktor: Prof. Dr. R. Schröder)

Weitere Untersuchungen über die Permeabilität des Amnions

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Christian-Albrecht-Universität zu Kiel

Vorgelegt von
Hagen Schmidt
aus Geestrup,
Kreis Hadersleben

Kiel 1927

Druck von Meinders & Elstermann, Osnabrück

Rektoratsjahr: 1928-29. N 8.
Referent: Priv.-Doz. Runge.
Korreferent: Prof. Schröder.
Zum Drucke genehmigt: Prof. Dr. Stertz, z. Zt. Dekan.

In der neueren Zeit wird dem Studium der Permeabilität an toten und lebenden Membranen erhöhtes Interesse entgegengebracht. Besonders J. Loeb und L. Michaelis haben durch Untersuchungen an der künstlichen toten Membran viele Erscheinungen klären können, die auch zur lebenden Zellmembran in Beziehung stehen. Die noch verhältnismäßig geringe Untersuchungszahl an der lebenden Membran zeigt starke Abweichungen und Besonderheiten im Vergleich zur toten. So entdeckte H. J. Hamburger, daß die lebende Glomerulusmembran für β-Galaktose durchgängig ist, dagegen nicht für α-Galaktose, daß sie weiterhin Laevulose, dagegen Dextrose nicht durchläßt. Er hat auch im Jahre 1908 Versuche über die Permeabilität von meist abgetöteten Membranen in entgegengesetzten Richtungen angestellt. Seine Versuchsanordnung bestand darin, daß ein offener Glaszylinder an beiden Enden durch die zu erforschende Membran abgeschlossen war. Glaszylinder wurden an beiden Seiten an die Membran gelegt. Den Mittelzylinder füllte man dann mit einer 0,9 % Na Cl-Lösung und die Seitenzylinder mit Wasser, und auf diese Weise ließ sich die Diffusion von Kochsalz durch die Membran in die Seitengefäße hinein beobachten.

Unter den ersten, die die Permeabilität an lebenden Membranen studierten, ist vor allem E. W. Reid zu erwähnen. Am ausgeschnittenen Kaninchenileum weist er den Flüssigkeitstransport in der Resorptionsrichtung, die Umkehr des Wassertransportes bei einer Darmmembran eines an Durchfall erkrankten Tieres nach. Dieser Forscher entdeckte auch große Unterschiede bei Versuchen an Membranen von einem Darmtraktus, der vorher starke Peristaltik gezeigt hatte, und von einem solchen, der sich vor dem Versuch in Ruhe befand.

Zum Studium der Permeabilität ist auch das Amnion geeignet. Histologisch*) ist das Amnion hauptsächlich von Mandl und Bondi untersucht worden, die nachwiesen, daß das Amnionepithel zuerst niedrig, endothelartig, in der Mitte der Schwangerschaft kubisch und später selbst zylindrisch, mit einer Art Stäbchenbesatz und granulären Einschlüssen sei. Vom 5. Monat der Schwangerschaft an läßt sich nach Polano ein deutlicher Unterschied zwischen placentarem und freiem Amnion erkennen. Das Epithel des ersteren

*) Hinselmann im Halban-Seitz.

ist im wesentlichen zylindrisch, das des letzteren kubisch. Polano vertritt auch die Meinung, daß die Ernährung des Embryos zu einem großen Teil von der Fetteinwanderung durch die Eihäute bestritten wird, weil er im Amnionepithel und im Bindegewebe des freien Amnions große Fettropfen vorfand. Das Amnionepithel enthält auch reichlich Glykogen. Allgemein anerkannt ist heute wohl die Bedeutung des Amnions für die Bildung des Fruchtwassers. Nach Hinselmann ist die spezifische Permeabilität des Amnionepithels abhängig von den intercellulären Struktur- und Stoffverhältnissen und von der Zelle selbst.

Meine Aufgabe ist es, die Durchlässigkeit des Amnions für verschiedene Farbstoffe zu erforschen.

Die Versuchsanordnung ist folgende:

Nach der Ausstoßung wurde die Placenta bei den ersten Versuchen sofort in eine Schüssel mit körperwarmer Thyrodelösung gelegt, und die Eihäute durch mehrmalige Spülung mit frischer Thyrodelösung von Blut gesäubert. Unter größter Schonung der Membran trennte ich das Amnion vom Chorion, ließ es aber in Verbindung mit der Placenta und der Nabelschnur bleiben. Für den weiteren Verlauf des Versuches bildete die Placenta ein Hindernis, auch verunreinigte das fortwährende Austreten von Blut die Thyrodelösung; daher löste ich gleich von der frischen Placenta mit leisem Zug das Amnion in ganzem Umfange ab, was um so leichter gelingen konnte, als häufig die Membran durch das Geburtstrauma nicht mehr dem Chorion anhaftete, sondern nur noch von der Nabelschnur abzutrennen war. Vom Amnion konnten jetzt die Blutkoagula in Thyrodelösung leicht entfernt werden, und die saubere Membran wurde in einer im Brutschrank auf 37° C angewärmten und mit Thyrodelösung gefüllten Schüssel ausgebreitet. Wir stellten die Thyrodelösung für unsere Versuche selbst her. Sie hat die Zusammensetzung:

Lösung I.

Na Cl — 80 g K Cl — 2 g $CaCl_2$ 17,6 ccm norm. Lösung $MgCl_2$ 10,5 ccm norm. Lösung	auf 8000 ccm Aqua dest.

Lösung II.

NaH_2PO_4 — 0,5 g Na H CO_3 — 10 g	auf 2000 ccm Aqua dest.

8 Teile der ersten und 2 Teile der zweiten ergaben die fertige Lösung. Eine einmalige Messung der Wasserstoffionenkonzentration zeigte einen Wert $p_h = 7{,}24$.

Durch eine frühere Arbeit an der hiesigen Klinik war für die Diffusionsversuche eine Methode ausgearbeitet, die auch ich angewandt habe:

Ein an beiden Seiten offener Glaszylinder wird über einen zweiten Glaszylinder von geringerem Durchmesser, der oben geschlossen ist, gestülpt. In einer bestimmten Höhe ruht der offene Zylinder auf einem Gummiring und umschließt oben mit etwas gebogenem Rand den geschlossenen Zylinder, daß dieser beinahe halbkugelförmig herausragt. Über den Halbkugelabschnitt ziehe ich das Amnion, bis er über den gebogenen Rand des offenen Zylinders hinab bedeckt ist. Mit der Schere wird die Hülle vom Amnion getrennt und mit dünnem Bindfaden am offenen Zylinder befestigt. So war ein Amnionsack gebildet von stets gleichem Rauminhalt, der in ein Becherglas mit 40 ccm körperwarmer Thyrodelösung hineingetaucht wurde. Der Zylinder mit der Membran wurde von einer in der Mitte durchbohrten Korkscheibe getragen, die auf dem oberen Rand des Becherglases ruhte. Diese Scheibe schloß sich dem Zylinder dicht an, erlaubte aber eine Verschiebung. Hatte ich zuerst die glatte, foetale Seite des Amnions nach außen gewandt, so bildete das zweite Mal die choriale Seite die Außenschicht, die also mit der Thyrodelösung in direkter Berührung stand. Eine Verwechslung der Membranseiten konnte nicht stattfinden, weil stets kleine Blutgerinnsel und Rauhigkeiten auf das Chorion hindeuten, die foetale Seite dagegen immer glatt ist. Der Übersicht wegen nennen wir die choriale Seite a, die foetale glatte Fläche b. Auch die Bechergläser mit der Thyrodelösung werden je nach der mit der Lösung in direkter Berührung stehenden Membranseite bezeichnet. War das Amnion nicht zerrissen, ließ ich der Kontrolle wegen einen oder zwei Parallelversuche laufen. Mit möglichster Schnelligkeit wurde gearbeitet, damit die Thyrodelösung nicht abkühlte und der über der Flüssigkeit befindliche Amnionabschnitt nicht an der Luft trocknete. Jetzt konnte der im Wasserbad von 37° C warmgehaltene Farbstoff als Innenflüssigkeit des Amnionsackes eingeführt werden in einer Menge von 10 oder 20 ccm. Schädigungen des Sackes wurden durch den feinen Strahl der Pipette vermieden. Waren alle Gläser mit Farbstoff beschickt, achtete ich darauf, daß die Membranen gleichtief in die Thyrodelösung hineinragten, damit die Diffusionsfläche dieselbe war. Dann ließ ich die Gläser etwa 5 Minuten stehen, um festzustellen, ob das Amnion nicht verletzt und abnorm durchlässig sei. So konnte ich häufig eine große Fehlerquelle ausschalten, indem eine schadhafte Membran ersetzt wurde. Wie unten bei der Beschreibung der Durchlässigkeit der einzelnen Farbstoffe näher ausgeführt ist, stellte ich die Gläser in ein Wasserbad oder in einen Brutschrank von 37° C für 1 bis 2 oder 3 Stunden. Bei einigen Versuchen ließ ich den Farbstoff zum Vergleich bei einer Temperatur von 0° C auf Eis diffundieren. An dieser Stelle sei noch das Technische dargestellt: In der Hälfte der Versuche leitete ich Sauerstoff in die Gläser, um die Diffusion anzuregen in der Weise, daß lange, dünne, am Ende mit Glasröhren versehene Gummischläuche mit der Sauerstoffpumpe verbunden waren und durch eine feine Öffnung im

Korken neben dem Amnionsäckchen einen gleichmäßigen Sauerstoffwirbel erzeugten.

Die Feststellung, in welchem Verhältnis die durch die beiden Membranseiten diffundierten Farbstoffmengen zueinander stehen, geschah im Kolorimeter durch den Vergleich der Thyrodelösung a und b, in die der Farbstoff vom Amnionsäckchen hineindiffundiert war. Bisweilen verglich ich auch die Innenflüssigkeit der Membranen. Zwei verschiebliche Glaszylinder nahmen die Flüssigkeiten auf. Stets stellte ich auf der linken Seite des Kolorimeters die Flüssigkeit a auf einen bestimmten Skala-Wert ein und wanderte rechts mit dem Zylinder b, bis das Okular des Kolorimeters den gleichen Farbton anzeigte. Es ergab sich bei jeder Versuchsanordnung, im Wasserbad mit oder ohne Sauerstoff, im Brutschrank oder auf Eis, daß die Farbstoffdurchlässigkeit des Amnions bestimmten Gesetzen folgt. Frühere Versuche an der Klinik mit dem Ergebnis, daß mehr Farbstoff in die Außenflüssigkeit des Becherglases b diffundiert, d. h., daß in der Richtung vom Chorion zum Fruchtwasser hin die Diffusion größer ist als umgekehrt, habe ich vollauf bestätigen können. War der Kolorimeter-Skalenwert z. B. $\frac{a}{b} = \frac{60}{40}$, so zeigt dieser Wert, daß bei der kleinen Zahl die stärkste Farbstofikonzentration liegt. Übersichtlicher wird das Ergebnis, wenn man es in Prozente umrechnet. Man kann folgende Gleichung aufstellen: Die Menge des Diffundierten ist umgekehrt proportional der Schichthöhe. Denn beim Kolorimetrieren ist die Flüssigkeitshöhe im Zylinder a bedeutend höher als im Zylinder b. In unserem Fall erhalten wir also:

$$a : b = 60 : 40 = \text{Kolorimeter-Schichthöhe}$$
$$a : b = 40 : 60 = \text{Menge des Diffundierten}$$
$$b = \frac{60a}{40}$$

Setzen wir dann a = 100 %, so müssen wir vom Endresultat 100 % abziehen und erhalten so den in b diffundierten Mehrwert:

$$b = 150\,\% - 100\,\%$$
$$b = a + 50\,\%.$$

Die ersten Versuche machte ich mit Gentiana-Violett (1: 2000). Dieser Farbstoff wurde mit Thyrodelösung im Verhältnis 1: 10 verdünnt. Als Außenflüssigkeit kamen in jedes Becherglas 40 ccm Thyrodelösung, als Innenflüssigkeit 10 ccm Gentiana-Violett in den Eihautsack. Die Versuchsanordnung war in dieser Versuchsreihe der Thermostat unter Zuleitung von Sauerstoff. In der Tabelle, die zu den Versuchen mit Gentiana-Violett gehört, wie in den folgenden Tabellen fallen die prozentualen Unterschiede der Durchgangswerte auf, die ich zurückführen möchte auf die verschiedene Dicke der Membranen — viele Häute waren sogar in den einzelnen Abschnitten ungleich, woraus die Verschiedenheiten bei den Parallelversuchen sicher in den meisten Fällen zu erklären sind — zwei-

tens auch darauf, daß es manchmal bei stark schleimbelegten Membranen nicht gelang, sie ganz schleimfrei zu machen.

Nur einmal wurden hier zur Kontrolle zwei Parallelversuche aufgestellt. Deutlich zeigte sich die Wirkung der Änderung der Versuchsbedingungen, als ich statt der frischen eine 3 Stunden alte Placenta nahm und die Versuchsgläser nicht im Wasserbad, sondern im Brutschrank und ohne Sauerstoffzufuhr stehen ließ. In den Bechergläsern, wo die foetale Membranseite der Außenflüssigkeit zugekehrt war, war die Farbstoffkonzentration eine größere, nur bei einem Parallelversuch ergab sich ein umgekehrter Wert, dem ein Membrandefekt zugrunde liegen muß. Lasse ich diesen Wert fort, und dividiere ich die Summe der gefundenen Zahlen durch die Anzahl der Versuche, ergibt sich:

$$b = a + 17{,}2\ \%.$$

Die folgende Tabelle bringt eine klare Übersicht:

Tabelle Nr. 1. Gentiana-Violett (1:2000).

Datum und lfd. Nr.	Alter der Placenta	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Resultat
15. 11. 26 Nr. 1	frisch	Thermostat u. Sauerstoff	2 Stunden	b = a +20,7%
16. 11. 26 Nr. 2	frisch	Thermostat u. Sauerstoff	2 Stunden	b = a + 6,6%
22. 11. 26 Nr. 3	frisch	Thermostat u. Sauerstoff	2 Stunden	b = a +19,5%
24. 11. 26 Nr. 4	frisch	Thermostat u. Sauerstoff	2 Stunden	b = a +42,9%
10. 12. 26 Nr. 5	3 Stunden auf Eis	Brutschrank ohne Sauerstoff	2 Stunden	I b = a + 8,9% II b = a −25 % III b = a + 4,8%

Zu einem ähnlichen Ergebnis führten Versuche mit Lithioncarmin (Grübler), einem sehr stark basischen Farbstoff, der im Verhältnis 1:20 in Thyrodelösung gelöst wurde. Wie ich im histologischen Präparat feststellen konnte, besitzt dieser Farbstoff eine außerordentliche Zellaffinität. Zur Untersuchung kam ein Amnionsäckchen, das zu einem Diffusionsversuch gedient hatte und nach einer Fixierung in Alkohol die überaus intensive Farbstoffspeicherung der Epithelien mikroskopisch erkennen ließ. Besonders die Zellkerne zeichneten sich durch eine starke Rotfärbung aus. Strukturelle Feinheiten der Epithelien konnte ich bei dieser Färbung nicht unterscheiden. Im Thermostaten wurde zu jedem Versuch ein Parallelversuch angesetzt und Sauerstoff zugeleitet. Die Versuchsanordnung und -dauer war die gleiche wie beim Gentianaviolett, und trotz der starken Speicherung ist die Permeabilität in ausgesprochener Weise gerichtet. Nur ein Versuch ergab ein umgekehrtes Resultat. Daß es auf eine schadhafte Membran zurückzuführen ist, schließe ich daraus, daß der kolorimetrische Vergleich der beiden Außenflüssigkeiten a mit einer dritten Außenflüssigkeit b des glei-

Tabelle Nr. 2. Lithioncarmin (Grübler) Ringer 1:20.

Datum und lfd. Nummer	Alter der Placenta	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Resultat I	Resultat II
27. XI. 26 Nr. 1	frisch	Thermostat und Sauerstoff	3 Stunden	b = a + 74 %	b = a + 11 %
27. XI. 26 Nr. 2	40 Min.	Thermostat und Sauerstoff	2 Stunden	b = a + 52,2 %	b = a + 20,7 %
29. XI. 26 Nr. 3	frisch	Thermostat und Sauerstoff	2 Stunden	b = a + 33 %	b = a + 40 %
2. XII. 26 Nr. 4	frisch	Thermostat und Sauerstoff	2 Stunden	b = a − 17,7 %	b = a − 19,8 %
3. XII. 26 Nr. 5	frisch	Thermostat und Sauerstoff	2 Stunden	b = a + 6 %	b = a

Tabelle Nr. 3. Methylenblau 0,1 % (in Thyrodelösung).

Datum und lfd. Nummer	Alter der Placenta	Farbstoffkonzentration	Versuchsanordnung	Dauer	Resultat I	Resultat II	Resultat III
4.XII.26 Nr. 1	frisch	10 ccm 0,1% Thyr. 1:25	Thermostat u. Sst.	1-3Std.	b = a + 120% 1Std.	b = a + 25% 2 Std.	b = a + 26,3% 3Std.
6.XII.26 Nr. 2	frisch	10 ccm 0,1% Thyr. 1:10	Thermostat u. Sst.	1 Std.	M. geplatzt	b = a + 45,8%	b = a + 82,9%
10.XII.26 Nr. 3	frisch	10 ccm 0,1% Thyr. 1:25	Brutschr. ohne Sst.	2 Std.	M. geplatzt	b = a + 68,5%	b = a + 50 %
11.XII.26 Nr. 4	30 Min.	10 ccm 0,1% Thyr. 1 : 7	Brutschr. ohne Sst.	2-3Std.	b = a nach 2 Std.	b = a + 40% nach 2 Std.	b = a + 100% nach 3 Std.
14.XII.26 Nr. 5	frisch	10 ccm 0,1% Thyr. 1 : 7	Brutschr. ohne Sst.	1 Std.	b = a + 48,9%	–	–

chen Versuches wieder einen positiven Wert für b ergab. Auch wenn ich diese negativen Ergebnisse abziehe, ist in Richtung vom Chorion zum Fruchtwasser hin rund 20 % mehr Farbstoff diffundiert als in der Gegenrichtung, wie die Tabelle Nr. 2 zeigt.

Als dritten Farbstoff ließ ich Methylenblau durch das Amnion diffundieren. Es ist ein Thiazin-Farbstoff, der in Wasser mit blauer Farbe gut löslich ist und relativ ungiftig für die Zelle sein soll. Bei den ersten fünf Versuchen war die Außenflüssigkeit 40 ccm Thyrodelösung, die Innenflüssigkeit 10 ccm Methylenblau, 0,1 % in Thyrodelösung.

Wie aus Tabelle Nr. 3 zu ersehen ist, habe ich bei den ersten beiden Versuchen im Thermostaten Sauerstoff zugeleitet, die drei nächsten im Brutschrank ohne Sauerstoff angesetzt und außerdem den Farbstoff in verschiedenen Mengen von Thyrodelösung verdünnt und die Diffusionszeit bei zwei Versuchen variiert. Trotzdem bleibt das Verhältnis der durch die beiden Amnionseiten diffundierten Lösungen fast gleich, wenn auch kolorimetrisch festgestellt werden konnte, daß die hindurchgegangene Farbstoffmenge im Brutschrank erheblich geringer war. Im Durchschnitt ist 50 % mehr Methylenblau in Richtung zum Fruchtwasser hin diffundiert.

Bekannt ist, daß das Methylenblau im Körper zu einer farblosen Leukoverbindung reduziert wird. Bei intravenöser Injektion erfolgt diese Reduktion mit großer Geschwindigkeit. Auch die Thyrodelösung besitzt die Eigenschaft, das Methylenblau zu entfärben, und zwar glaube ich, das beschleunigte Verschwinden des Farbtons auf die Anwesenheit des Phosphatgemisches zurückführen zu können. Das Fehlen von Na H CO_3 und Na H_2 PO_4 bewirkte erst eine ganz allmähliche Abnahme.

Um genauere Kolorimeterwerte zu erzielen, wurden die Außenflüssigkeiten in allen Gläsern mit der gleichen Menge $^1/_{100}$ n Salzsäure versetzt. Gießt man wenig H Cl über die gebrauchte Membran, erhält man ein leuchtendes Blau des bis dahin grünen Amnions. Beim Hinzufügen von 8 ccm wurde der grünlich schimmernde Farbton deutlich blau.

Bei den folgenden Versuchen mit Methylenblau verdoppelte ich die Innenflüssigkeit und ebenfalls die Konzentration des Farbstoffes. In der Tabelle sind die Verdünnungen mit Thyrodelösung angeführt. In sechzehn von den 21 Einzelversuchen findet sich im Becherglase b ein Überschuß an Farbstoff gegenüber den Gläsern a, während ich das Resultat in den andern Fehlerquellen zuschreibe. Der große Unterschied in den Werten muß auch den Gedanken nahelegen, daß das Aufspannen der Membranen die Epithelien schädigt. Trotzdem ist die Permeabilität von der chorialen zur foetalen Seite um rund 39 % größer gewesen als in der entgegengesetzten Richtung. Die beiden ersten Versuche wurden im Brutschrank, die letzten fünf im Thermostaten ohne Sauerstoff angesetzt (s. Tabelle Nr. 4).

Tabelle Nr. 4.

Methylenblau 0,2 %.

Datum und lfd. Nummer	Alter der Placenta	Farbstoff-konzentration	Versuchs-anordnung	Dauer	Resultate der Außenflüssigkeit I	II	III
17. I. 27 Nr. 6	10' auf Eis	20 ccm 0,2% Ri 1:3	Brutschr. ohne Sst.	2 Std.	b = a + 25 %	b = a + 5,8%	b = a − 22,2%
20. I. 27 Nr. 7	2 Std. Eis	20 ccm 0,2% Ri 1:3	Brutschr. ohne Sst.	2 Std.	b = a − 5,4%	b = a + 41 %	b = a + 37,5%
22. I. 27 Nr. 8	frisch	20 ccm 0,2% Thyr. 1:2	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a + 155,8%	b = a − 60 %	b = a − 30,8%
23. I. 27 Nr. 9	frisch	20 ccm 0,2% Thyr. 1:1	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a + 172,7%	b = a + 38,9%	b = a + 20,4%
24. I. 27 Nr. 10	frisch	20 ccm 0,2% Thyr. 1:2	Thermostat ohne Sst.	2 Std.	b = a + 49,4%	b = a − 23,1%	b = a + 78,1%
26. I. 27 Nr. 11	30 Min.	20 ccm 0,2% Thyr. 1:3	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a + 86 %	b = a + 25 %	b = a + 59,6%
26. I. 27 Nr. 12	frisch	20 ccm 0,2% Thyr. 1:3	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a + 15,8%	b = a + 80 %	b = a + 80 %

Tabelle Nr. 6.

Säurefuchsin (0,2 %).

Datum und lfd. Nummer	Alter der Placenta	Farbstoff-konzentration	Versuchs-anordnung	Dauer	Resultat I	II	III
31. I. 27 Nr. 1	2 Std.	0,2% in Thyrode	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a + 57 %	b = a + 38,9%	b = a + 57 %
7. II. 27 Nr. 2	3½ Std.	0,2% in Thyrode	auf Eis	1 Std.	b = a + 57 %	b = a + 140 %	b = a + 57 %
7. II. 27 Nr. 3	3½ Std.	0,2% in Thyrode	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a + 134 %	b = a	b = a + 29,4%
9. II. 27 Nr. 4	2½ Std.	0,2% in Thyrode	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 160 %	b = a + 68,8%	b = a + 23,6%
9. II. 27 Nr. 4	—	0,2% in Thyrode	auf Eis	1 Std.	b = a + 50,7%	—	—
10. II. 27 Nr. 4	24 Std.	0,2% in Thyrode	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 132,1%	b = a + 372,2%	b = a + 112,5%

Die im Amnionsäckchen befindlichen 20 ccm Farbstofflösung verdünnte ich mit 25 ccm Aqua dest., versetzte sie mit 1 ccm $^1/_{100}$ n Salzsäure, um sie in derselben Weise wie die Außenflüssigkeiten im Kolorimeter zu vergleichen. Das Resultat ergab eine Bestätigung der gefundenen durch umgekehrte Skalenwerte. Um die Tabelle einheitlich zu gestalten, rechnete ich wieder die Vergleichszahlen auf b um. Die Unterschiede sind gering, weil die Speicherung der Membranepithelien nicht in Betracht gezogen werden kann.

Tabelle Nr. 5. Resultat der Innenflüssigkeit.

Lfd. Nr.	I	II	III
6	b = a − 12,7%	b = a − 12%	b = a − 6,8%
7	b = a − 6,8%	b = a	b = a − 4,4%
8	b = a	b = a − 14,7%	b = a
9	b = a − 23,1%	b = a − 18,2%	b = a − 11,8%
10	b = a − 18,2%	b = a − 8,3%	b = a − 26,2%
11	b = a + 4,7%	b = a	b = a − 12,7%
12	b = a − 5,8%	b = a − 15,1%	b = a − 7,6%

Säurefuchsin ist ein Farbstoff der Triphenylmethanreihe, der in Wasser leicht löslich ist. Wie das Lichtgrün, gehört das Säurefuchsin zu den Farbstoffen, die im Tierkörper in farblose Carbinole übergeführt werden. Thyrodelösung entfärbte auch Säurefuchsin, ebenso wie Methylenblau, und darum mußte beim Kolorimetrieren 8 ccm $^1/_{100}$ n H Cl den Außenflüssigkeiten zugesetzt werden. Durch wechselnde Versuchsanordnung, durch alte Membranen, gelang es mir nicht, eine Änderung der Diffusionsrichtung zu bewirken. Die Membranen von Nr. 4 der Tabelle wurden nach dem Versuch in Thyrodelösung gespült und hierin 24 Stunden bei + 3° C aufbewahrt. Dann wurde mit diesem Amnionsäckchen in derselben Anordnung der Versuch wiederholt: der Permeabilitätunterschied ist, wie aus der Tabelle ersichtlich, in 2 Gläsern bedeutend größer geworden. Zur Kontrolle dieses Ergebnisses stellte ich eine Säurefuchsinlösung von 0,001 % in Aqua dest. her und habe mit der Standardlösung die Werte nachgeprüft. Das Verhältnis $\frac{\text{Standardlösung}}{\text{a}}$ war nach 24 Stunden das gleiche, während $\frac{\text{Standardlösung}}{\text{b}}$ durch die größere Farbstoffkonzentration von b sich erheblich veränderte. Es besteht kaum ein Unterschied im Verhältnis a : b in der Außenflüssigkeit von Gläsern, die im Thermostaten und solchen, die auf Eis gestanden haben. Der Farbstoff war 0,2 % in Thyrodelösung (s. Tabelle Nr. 6).

In den weiteren Versuchen mit nur frischen Membranen habe ich den Einfluß von Giften auf die Eihaut untersucht. Als Farbstoff diente Patentblau, ein Farbstoff der Triphenylmethanreihe,

Tabelle Nr. 7. Patentblau (0,1 % in Thyrode) mit KCN-Lösung.

Datum und lfd. Nummer	Alter der Placenta	Farbst.-konz.	Versuchs-anordnung	Dauer	Resultat I	Resultat II	Resultat III
16. II.27 Nr. 1	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 18,2% ohn. KCN	b = a + 54,8% mit KCN	b = a + 7,4% mit KCN
17. II.27 Nr. 2	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 58,5% ohn. KCN	b = a mit KCN	b = a − 7,7%
18. II.27 Nr. 3	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 35,4% mit KCN	b = a + 26,2% mit KCN	b = a + 52,9% mit KCN
18. II.27 Nr. 4	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a	b = a + 27,5 %	b = a + 27,5 %
19. II.27 Nr. 5	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 8,3 %	b = a + 66,6 %	b = a
21. II.27 Nr. 6	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std	b = a + 35,8 %	b = a + 42,9 %	b = a + 52,8 %
21. II.27 Nr. 7	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 10 %	b = a	b = a + 66,6 %
28. II.27 Nr. 8	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 44,4 %	b = a + 29 %	b = a + 44,7 %
1. III.27 Nr. 9	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a − 28 %	b = a	b = a − 13,4 %
3. III.27 Nr.10	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a	b = a − 21 %	b = a − 16 %
3. III.27 Nr.11	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 50,6 %	b = a + 61,7 %	b = a + 25 %
4. III.27 Nr.12	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a	–	–
4. III.27 Nr.13	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 37,5 %	b = a + 23,5 %	b = a + 12,3 %
4. III.27 Nr.14	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 37,5 %	b = a + 7,8 %	b = a + 18,2 %
7. III.27 Nr.15	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 22,2 %	b = a + 29,4 %	b = a + 61,8 %

der zu biologischen Versuchen mehrfach angewandt worden und ungiftig ist. Zur Vergiftung der Zelle kam vor allem das Kaliumzyanid in Frage, und zwar nahm ich eine 500stel Molarelösung. Um beide Seiten der Eihaut mit dem Gift in Berührung zu bringen, wurden sowohl der Farbstoff als auch die Thyrodelösung mit Cyankalium versetzt in folgendem Verhältnis:

100 ccm Patentblau (0,1 % in Thyrode)
+ 1 ccm 500stel molares K C N

100 ccm Ringersche Lösung
+ 1 ccm 500stel molares K C N.

Innenflüssigkeit 20 ccm Patentblau von 0,1 % + K C N.
Außenflüssigkeit 40 ccm Thyrodelösung mit K C N.

Gegenüber früheren Versuchen an der Klinik mit Patentblau habe ich durch die Kombination mit Cyankalium keine größere Abweichung finden können.

Um den Versuch Nr. 1 der Tabelle herauszugreifen, ließen sich diese Skalenwerte am Kolorimeter ablesen:

ohne K C N		mit K C N	
$\frac{a}{b} = \frac{70}{60}$		$\frac{a}{b} = \frac{70}{46}$ und	$\frac{a}{b} = \frac{70}{65}$
$\frac{a}{b} = \frac{60}{50}$		$\frac{a}{b} = \frac{60}{38}$ und	$\frac{a}{b} = \frac{60}{56}$

Sogar die doppelte Giftmenge in den 5 letzten Versuchen hat auf die Permeabilitätsrichtung, auf die Diffusionsmenge keine Einwirkung gehabt. Zwei von 15 Versuchen zeigen eine ausgesprochene Permeabilitätsumkehr, ein Prozentsatz, wie er bei den anderen Farbstoffen als durch Fehlerquellen bewirkt, gewertet wurde.

Um bei diesen Versuchen möglichst unter gleichen Bedingungen zu arbeiten, ließ ich die Gläser alle 1 Stunde im Wasserbad von 37° unter Sauerstoffzufuhr stehen. Im Durchschnitt ist die Diffusion von der chorialen nach der foetalen Amnionseite um 22 % größer gewesen.

$$b = a + 22\,\%.$$

Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tabelle Nr. 7 einzeln angeführt.

Zur Nachprüfung der Tabelle habe ich noch die diffundierten Lösungen in allen Gläsern mit einer Patentblau-Standardlösung von 0,005 % nachgeprüft. Da es nicht möglich ist, eine Prozentrechnung hierfür zu finden, lasse ich die Kolorimeterwerte folgen:

Tabelle Nr. 8.

Vers. Nr.	Standard Ia	St. IIa	St. IIIa	St. Ib	St. IIb	St. IIIb
Nr. 1	80/40	80/55	80/46	80/36	80/38	80/46
Nr. 2	80/50	80/35	80/30	80/35	80/38	80/38
Nr. 3	70/38	70/43	70/47	70/30	70/40	70/34
Nr. 4	70/37	70/45	70/42	70/38	70/37	70/35
Nr. 5	70/50	70/52	70/48	70/45	70/30	70/47
Nr. 6	40/55	40/60	40/46	40/48	40/43	40/37
Nr. 7	80/41	80/40	80/40	80/38	80/42	80/26
Nr. 8	70/32	70/28	70/28	90/27	90/27	90/27
Nr. 9	90/38	90/40	90/40	90/48	90/36	90/40
Nr. 10	100/48	100/40	100/41	100/48	100/50	100/50
Nr. 11	100/55	100/69	100/58	100/38	100/47	100/48
Nr. 12	80/63	—	—	80/63	—	—
Nr. 13	60/74	60/70	60/56	60/64	60/62	60/52
Nr. 14	90/55	90/60	90/55	90/43	90/54	90/43
Nr. 15	80/69	80/64	80/64	80/58	80/48	80/42

Vergleiche ich z. B. das Verhältnis

$$\frac{\text{Standardlösung}}{\text{Ia}} = \frac{80}{50} \quad \text{und} \quad \frac{\text{Standardlösung}}{\text{Ib}} = \frac{80}{35} \text{ (Versuch Nr. 2)}$$

so zeigt es an, daß in Ib die Farbstoffkonzentration dichter ist.

Bei den nächsten Versuchen versetzte ich z. T. die Innen- und Außenflüssigkeiten mit Sublimat:

4,3 g Sublimat
16 g Na Cl
} in 100 ccm Aqua dest.

war die Stammlösung, die noch mit Aqua dest. 20fach verdünnt wurde. Der 1 % Farbstoff war einmal mit der Sublimatlösung, einmal mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 10 vermischt, um sein Verhalten in den beiden Lösungen nebeneinander

Tabelle Nr. 9. Patentblau (0,1 % in Thyrode) mit Sublimat.

Datum und lfd. Nummer	Alter der Placenta	Farbst.-konz.	Versuchs-anordnung	Dauer	Resultat I	Resultat II	Resultat III
2. II. 27 Nr. 1	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 66,7%	b = a + 116,7% m. Subl.	b = a + 73,3%
3. II. 27 Nr. 2	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 26,4%	b = a + 58,3% m. Subl.	b = a + 16,7% m. Subl.
8. II. 27 Nr. 3	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 85,7% m. Subl.	b = a + 66,7% m. Subl.	b = a + 66,7% m. Subl.
11. II. 27 Nr. 4	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 124,2%	b = a + 10,2% m Subl.	b = a + 24,4% m. Subl.
11. II. 27 Nr. 4	frisch	0,1 %	auf Eis	1 Std.	b = a + 4 % m. Subl.		
12. II. 27 Nr. 4	24 Std.	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 100 % m. Subl.	b = a + 58,3% m. Subl.	b = a + 80,6% m. Subl.
14. II. 27 Nr. 5	frisch	0,1 %	Thermostat und Sst.	1 Std.	b = a + 132 %	b = a + 16 % m. Subl.	b = a + 13,6% m. Subl
14. III. 27 Nr. 6	frisch	0,1 %	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a + 86,4%	b = a + 37,5%	b = a + 22,2%
14. III. 27 Nr. 7	frisch	0,1 %	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a + 69,2%	b = a	b = a + 23,6%
15. III. 27 Nr. 8	frisch	0,1 %	Thermostat ohne Sst.	1 Std.	b = a	b = a + 5,5%	b = a + 11 %

beobachten zu können. In Versuch 1—5 der Tabelle diffundierte einerseits Patentblau in physiologische Kochsalzlösung, andererseits sublimatgelöst in die verdünnte Sublimatstammlösung. So wirkte auch hier das Gift auf beide Membranseiten. Alle Versuche mit Sublimat sind in der Tabelle bezeichnet. Wie mit Cyankalium konnte ich auch mit Sublimat keine Änderung der Permeabilität erzielen. Stets war in die Außenflüssigkeiten der Gläser, wo die glatte Amnionseite mit der physiologischen Kochsalzlösung in direkter Berührung stand, eine Farbstoffmenge von stärkerer Konzentration diffundiert.

Nach dem Versuch Nr. 4 wurden die Amnionsäckchen entleert, innen und außen mit physiologischer Kochsalzlösung gespült und darauf in eine Schüssel mit Sublimat-Kochsalzlösung gelegt:

4,3 Hg Cl_2, 16 g Na Cl in 100 ccm Aqua dest.

verdünnt mit Aqua dest. 1 : 10.

Die Membranen wurden hierin 24 Stunden bei + 1° C aufbewahrt, um demselben Versuch noch einmal unterworfen zu werden. Keine Umkehr der Permeabilität, nur eine geringe Verschiebung im Verhältnis $\frac{a}{b}$ tritt ein. Ich lasse die Kolorimeterwerte folgen:

Frisch:

Gläser I $\frac{a}{b} = \frac{70}{33}$ Gläser II $\frac{a}{b} = \frac{70}{65}$ Gläser III $\frac{a}{b} = \frac{60}{50}$

Gläser I $\frac{a}{b} = \frac{60}{25}$ Gläser II $\frac{a}{b} = \frac{60}{53}$ Gläser III $\frac{a}{b} = \frac{50}{40}$

Nach 24 Stunden:

Gläser I $\frac{a}{b} = \frac{70}{38}$ Gläser II $\frac{a}{b} = \frac{70}{47}$ Gläser III $\frac{a}{b} = \frac{70}{42}$

Gläser I $\frac{a}{b} = \frac{60}{27}$ Gläser II $\frac{a}{b} = \frac{60}{35}$ Gläser III $\frac{a}{b} = \frac{60}{30}$

Die Permeabilität von der chorialen zur foetalen Seite des Amnions betrug rund 50 % mehr als in der Gegenrichtung (s. Tabelle Nr. 9).

Trotzdem der diffundierte Farbstoff etwas verdeckt ist, habe ich ihn in allen Gläsern doch wieder mit einer Standard-Patentblaulösung (von 0,005 %) verglichen. Die Tabelle mit den Kolorimeterwerten ergibt in gewisser Hinsicht eine Bestätigung der gefundenen Werte, wenn auch wegen des veränderten Farbtons Ungenauigkeiten des Resultats nicht zu vermeiden sind (s. Tabelle Nr. 10).

Tabelle Nr. 10.

Patentblau-Standardlösung 1 : 2000.

Vers. Nr.	Stand. lös. Ia	St. IIa	St. IIIa	St. Ib	St. IIb	St. IIIb
2	50/64	50/44	50/39	50/55	50/31	50/34
3	60/65	60/65	60/45	60/34	60/32	60/25
4 frisch	70/59	70/57	70/64	70/28	70/58	70/50
Eis	20/60	—	—	20/60	—	—
nach 24 Stunden	50/57	50/56	50/62	50/37	50/40	50/42
5	40/60	40/42	40/60	70/55	70/64	70/77
6	50/73	50/44	50/43	50/35	50/26	50/31
7	80/53	80/52	80/55	80/40	80/52	80/50
8	80/50	80/59	80/57	80/48	80/55	80/54

Als Zusammenfassung der Versuchsergebnisse läßt sich sagen:

1. Die Permeabilität des Amnions für saure und basische Farbstoffe ist gerichtet.

2. Die Diffusionsstärke von der chorialen zur foetalen Amnionseite ist größer als in der Gegenrichtung.

3. Zellgifte wie Cyankalium und Sublimat üben keinen Einfluß auf die Richtung der Permeabilität.

Zum Schluß sei mir gestattet, Herrn Dr. Runge für seine stets gern gewährte Hilfe und Förderung meiner Arbeit, sowie Herrn Prof. Dr. Schröder für die freundliche Überlassung des Materials, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Hagen Hagensen Schmidt, wurde am 10. I. 1904 in Geestrup im Kreise Hadersleben als Sohn des Hofbesitzers Hans Schmidt und seiner Ehefrau Ingeborg, geb. Schmidt, geboren.

Nach 4½jährigem Besuch der Volks- und Privatschule in Toftlund (Nord-Schleswig) kam ich auf das Realgymnasium in Flensburg, wo ich im Frühjahr 1923 die Reifeprüfung bestand, um mich dann dem Studium der Medizin zu widmen. Die ersten vier vorklinischen Semester studierte ich in München, das folgende in Kiel, und ich bestand hier am 29. X. 1925 das Physikum. Während der klinischen Semester studierte ich in Kiel, wo ich im Frühjahr 1928 das medizinische Staatsexamen zu machen gedenke.